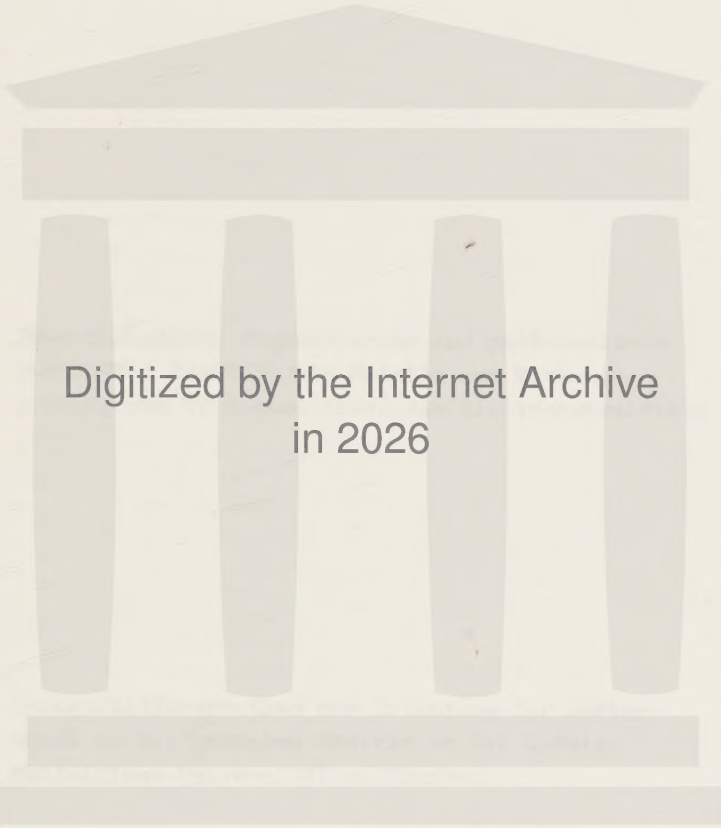


UV-A induzierte Pigmentierung
und phototoxische 8-MOP-UV-A Reaktion
als Modelle zur Wirkungsprüfung von
UV-A absorbierenden Lichtschutzmitteln

Matthias Rüger



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Dermatologische Klinik
und Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr.h.c. O. Braun-Falco

UV-A induzierte Pigmentierung und phototoxische
8-MOP-UV-A Reaktion als Modelle zur Wirkungs-
prüfung von UV-A absorbierenden Lichtschutzmitteln

Inauguraldissertation zur Erlangung der Doktor-
würde in der gesamten Medizin an der Ludwig-
Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Matthias Rüger
aus München

1984

Berichterstatter: Prof. Dr. G. Plewig

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 10. 1984

INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Spektrale Verteilung des Lichts	1
1.2.	UV-B und UV-A-Wirkungen, akute und chronische	1
1.3.	Melanozyten	5
1.4.	Phototoxizität und Photoallergie	9
1.5.	Lichtschutz, Lichtschutzmittel, Lichtschutzzfaktor	12
1.6.	Abkürzungen und Bewertungsschemata	16
2.	MATERIAL und METHODEN	17
2.1.	Personen	17
2.2.	Bestrahlungsgeräte	17
2.3.	Testsubstanzen	18
2.4.	Versuchsanordnung	19
2.4.1.	Modell zur Untersuchung der UV-A Spätpigmentierung	19
2.4.1.I	Bestimmung der MTD mit und ohne Lichtschutzmittel	19
2.4.1.II	Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf die UV-A Spätpigmentierung der Haut	20
2.4.2.	Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf eine phototoxische Reaktion (8-MOP-UV-A)	22

2.4.2.I	Bestimmung der Dosis-Wirkungs- beziehung zwischen 8-MOP und UV-A	22
2.4.2.II	Einfluß eines Lichtschutzmittels auf die lokale phototoxische 8-MOP-UV-A Reaktion	22
2.4.2.III	Blockierung der phototoxischen 8-MOP- UV-A Reaktion durch Lichtschutzmittel	24
2.4.2.IV	UV-A Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205 in verschiedenen Konzen- trationen nach lokaler Vorbehandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung	25
2.4.2.V	UV-B Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205	26
2.5.	Statistische Bearbeitung	26
2.6.	Histologische Untersuchungen	27
3.	ERGEBNISSE	29
3.1.	Modell zur Untersuchung der UV-A Spätpigmentierung	29
3.1.I	Bestimmung der MTD mit und ohne Lichtschutzmittel	29
3.1.II	Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf die UV-A Spätpigmentierung der Haut	29
3.2.	Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf eine phototoxische Reaktion (8-MOP-UV-A)	32

3.2.I	Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen 8-MOP und UV-A	32
3.2.II	Einfluß eines Lichtschutzmittels auf die lokale phototoxische 8-MOP-UV-A Reaktion	34
3.2.III	Blockierung der phototoxischen 8-MOP-UV-A Reaktion durch Lichtschutzmittel	36
3.2.IV	UV-A Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205 in verschiedenen Konzentrationen nach lokaler Vorbehandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung	40
3.2.V	UV-B Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205	42
3.3.	Histologische Untersuchungen	44
4.	DISKUSSION	54
5.	ZUSAMMENFASSUNG	66
6.	LITERATUR	69

1. EINLEITUNG

1.1. Spektrale Verteilung des Lichts

Die Wirkung des UV-Lichtes auf menschliche Haut ist seit Jahrzehnten Gegenstand intensiver Forschung. Das UV-Spektrum wird heute in die drei Bereiche UV-C (180-280 nm), UV-B (280-320 nm) und UV-A (320-400 nm) unterteilt. Dabei ist der kurzwellige UV-C Anteil bei Sonnenbestrahlung ohne Bedeutung, weil UV-Strahlen der Wellenlängen unter 280 nm die Erde wegen der Filterwirkung des Ozongürtels der Atmosphäre nicht mehr erreichen (Lischka und Jung, 1982).

1.2. UV-B und UV-A-Wirkungen, akute und chronische;

Eine wesentliche, klinisch erkennbare Hautreaktion auf UV-Strahlen ist das Erythem. Es stellt eine Gefäßreaktion im Sinne einer Vasodilatation und erhöhten Permeabilität dar. Als Mediatoren werden nach UV-B Bestrahlung Prostaglandine freigesetzt (Wolff, 1982 ; Greaves und Sondergaard, 1970). Ungeklärt ist zur Zeit noch, ob UV-Strahlung direkt Mediatoren im Gefäßendothelium freisetzt oder ob Transmitter aus UV-geschädigten Epidermiszellen via diffusionem in das Stratum papillare und in das Gefäßendothelium gelangen, und auf diese Weise Mediatoren freiwerden (van der Leun, 1982).

UV-A und UV-B verursachen hinsichtlich Ausprägung und zeitlichem Verlauf (Wolff, 1982) sowie histopathologisch (Willis und Cylus, 1977; Gilchrest et al., 1983) unterschiedliche Hautveränderungen.

Das UV-B-Erythem erscheint 2-6 Stunden nach Bestrahlung und erreicht sein Maximum nach 10-24 Stunden (Wolff, 1982). Die zur Erzeugung eines Erythems erforderliche minimale Erythemdosis (MED) wird in der Literatur mit einem mittleren Wert von $22,8 \text{ mJ/cm}^2$ bei 300 nm angegeben (Sayre et al., 1966).

Im Gegensatz dazu erfordert das UV-A-Erythem etwa tausendfach höhere Dosen, es tritt bei 20 J/cm^2 UV-A auf (Ying et al., 1974). Es erscheint sofort ohne Latenzperiode und verschwindet je nach eingestrahlter Dosis innerhalb der folgenden Stunden oder Tage. Ein persistierendes 24-Stunden-Erythem erscheint nach Kaidbey et al. (1975, 1978) bei 50 bzw. 90 J/cm^2 UV-A, nach Parrish et al. (1974) bei $20-30 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Die beträchtlichen Unterschiede beruhen auf Problemen der Dosimetrie (Challoner und Diffey, 1977) und der unterschiedlichen Effektivität verschiedener UV-A Wellenlängen (maximale Effektivität nach Fischer und Solomon 385 nm). Außerdem sind sie auf verschiedene Hauttypen bzw. Bräunungszustände der Vergleichsgruppen zurückzuführen.

Histopathologisch zeigt ein starkes, durch 2-4 MED's UV-B hervorgerufenen Erythem gegenüber unbestrahlter Haut deutliche Veränderungen.

In der Epidermis befinden sich zahlreiche Sonnenbrandzellen, erkennbar am eosinophilen Zytoplasma und dunklen pyknotischen Kern. Das Stratum basale ist aufgelockert und im oberen Teil des Korioms findet man perivaskuläre lymphozytäre Infiltrate und polymorphkernige Leukozyten (Willis und Cylus, 1977; Gilchrest et al., 1983).

Die Sonnenbrandzellen stellen im wesentlichen geschädigte Keratinozyten dar. Ihr Auftreten ist dosisabhängig, sie werden bei reiner UV-A Einwirkung nicht beobachtet (Mutzhas et al., 1981), wohl aber bei phototoxischen Reaktionen durch 8-MOP-UV-A (Kaidbey und Kligman, 1979).

Nach 2-4 MED's UV-A zeigt die Epidermis keine charakteristischen Veränderungen. Sie bleibt durch die Bestrahlung unverändert (Willis und Cylus, 1977). Miescher kam 1957 zu ähnlichen Ergebnissen, als er epidermale zytotoxische Veränderungen als typische Reaktionen auf kurzwelliges UV-Licht betrachtete. Inter- und intrazelluläres Ödem, Nukleolysis und Zytolysis sind Ausdruck einer akuten UV-B-Schädigung (Wolff, 1982). Auf molekularer Ebene liegen dabei wahrscheinlich eine Erschöpfung der DNS-Reparaturmechanismen und eine Hemmung der Proteinsynthese zugrunde (van der Leun und Stoop, 1969).

Lang andauernde, intensive, wiederholte UV-B Bestrahlung

führt zu Zellschädigungen vor allem der Keratinozyten und induziert eine beschleunigte Epidermopoese, die zu Akanthose und Hyperkeratose führt (Schauder und Ippen, 1982). Aus diesen akuten Veränderungen entwickeln sich bei weiterer intensiver UV-Exposition chronische Schäden in Form eingeschränkter Zellfunktionen, Zelltod oder Zellatypien. Funktionsverlust der Fibroblasten führt zu Degeneration der elastischen Fasern im Korium. Dies bewirkt Faltenbildung, Elastose z.B. bei *Cutis rhomboidalis nuchae* sowie Komedonen und Follikelzysten bei *Morbus Favre-Racouchot* (*Elastéidose cutanée nodulaire à kystes et à comedones*) (Kligman, 1982).

Störungen der Melanozytenfunktion führen zu fleckigen De- und Hyperpigmentierungen, da nicht alle Zellen gleich vulnerabel gegenüber UV-Strahlen sind (Wolff, 1982). Schließlich entstehen Präkanzerosen wie aktinische Keratose oder *Lentigo maligna* (Lischka und Jung, 1982). Sie können zum spinözellulären Karzinom und malignen Melanom führen.

Ob langdauernde UV-A Bestrahlung, die im Gegensatz zu UV-B die Epidermis und das Korium durchdringt und bis in die Subkutis gelangt (Everett, 1966), zum Karzinom der Haut oder zu chronischen Lichtschäden wie Elastosis führen kann, ist noch nicht geklärt (Greaves und Briffa, 1981). Forbes, Davies und Urbach (1977) konnten keine Verstärkung der karzinogenen Wirkung von UV-B durch UV-A nachweisen. Längerdauernde UV-A Bestrahlung führt zu

Schädigungen der Kornea und Linse des Auges.

Möglicherweise spielt dabei Tryptophan, das UV-A absorbiert und in der Linse gehäuft vorkommt, eine Rolle (Pitts und Cullen, 1978).

1.3. Melanozyten

Während die energieärmere UV-A Strahlung die Epidermis und das Korium durchdringen kann und bis in die Subkutis gelangt (Everett, 1966), wird die energiereiche UV-B Strahlung überwiegend in den oberen Hautschichten durch Proteine, Aminosäuren, Lipoproteine, RNS sowie Chromophoren im Statum corneum absorbiert. Der physiologische Schutzmechanismus der Haut gegen UV-Schädigungen besteht in Akanthose und Hyperkeratose (Lichtschwiele nach Miescher, 1940) sowie Melaninneubildung. Hierzu kommen verschiedene DNS-Reparaturmechanismen wie Photoaktivierung, Excisionsreparatur und Postreplikationsreparatur, die durch UV-Strahlen dimerisierte Thyminbasen der DNS monomerisieren oder ersetzen (Smith, 1974).

Die UV-B melanogenese bewirkt eine Pigmentierung 48-72 Stunden nach Bestrahlung, die innerhalb mehrerer Tage ihr Maximum erreicht und einige Wochen anhält (Wolff, 1982).

Das Pigment wird im Melanozyt gebildet, der neuroektodermalen Ursprungs ist und im Stratum basale liegt. Er produziert Melanin, ein komplexes Polymer aus schwarz-bräunlichem indolhaltigen Eumelanin und gelb-rötlichem sulphathaltigen Pheomelanin (Fitzpatrick et al., 1979). Melanin wird in subzellulären Organellen, den Melanosomen, abgelagert. Die Melaninsynthese aus Tyrosin über Dopa, Dopachinon und Indolchinon mit anschließender Polymerisation wird von einem einzigen Enzym, der Phenoloxidase (Tyrosinase), katalysiert (Karlson, 1977). Phenoloxidase wird im rauen endoplasmatischen Retikulum aktiviert und zu den Melanosomen transportiert, wo es zu Melaninablagerung führt. Die melanisierten Melanosomen werden dann in die Dendriten der Melanozyten transportiert und von den Keratinozyten phagozytiert (Jimbow und Kukita, 1971). Jeder Melanozyt bildet über seine Dendriten mit 36 Keratinozyten die sogenannte epidermale Melanineinheit (Fitzpatrick et al., 1979). Im Zuge der Differenzierung der Keratinozyten gelangt Melanin in das Stratum corneum (Fitzpatrick und Breathnach, 1963).

Diese de novo Melaninsynthese wird durch UV-Strahlung induziert und durch gesteigerten Ab- und Aufbau von Keratinozyten katalysiert. So beobachteten Langner und Kligman (1972) nach Bestrahlung mit 3 MED's eines sonnenähnlichen UV-B Spektrums Hyperkeratose mit parakeratotischen Zellen und mononukleäre Infiltrate im Korium sowie eine deutliche Zunahme dopapositiver Melanozyten,

Verdickung und Extension der Dentrizen und einen überschießenden Melanintransport von den basalen Keratinozyten zu den oberflächlichen Zellschichten. Diese relative Verarmung basaler Zellschichten an Melanin erklärt das rasche Verschwinden der Pigmentierung nach einem intensiven Sonnenbrand (Langner und Kligman, 1972).

Im Gegensatz dazu ruft UV-A eine sofortige, schmutzig grau-braune Pigmentierung, das sogenannte IPD ("immediate pigment darkening") hervor. Diese Sofortpigmentierung tritt unmittelbar nach Bestrahlung auf und verschwindet 6-8 Stunden danach. Sie wird nur durch UV-A und möglicherweise sichtbares Licht, jedoch nicht durch UV-B hervorgerufen (Parrish et al., 1978). 1962 berichteten Pathak et al., daß "immediate pigment darkening" von Wellenlängen hervorgerufen werden kann, die bis in das Spektrum des sichtbaren Lichts (600 nm) reichen. Die Sofortpigmentierung verschwand innerhalb von 1-3 Stunden und wurde nach 48-72 Stunden von einer wiederauftretenden Pigmentierung gefolgt, die eine Melaninneubildung anzeigte. In neuerer Zeit untersuchten Kaidbey und Kligman (1978) diese Kinetik. Sie fanden, daß sofort nach Bestrahlung mit mittleren Dosen von $4,0 \pm 3,0 \text{ J/cm}^2$ eine Pigmentierung auftrat, die innerhalb von 5-10 Minuten verschwand. Ab einer bestimmten Dosis, der sogenannten "minimale tanning dose" (MTD), die im Mittel zwischen $17,7 \pm 8,0 \text{ J/cm}^2$ lag, konnte eine Pigmentierung erreicht werden, die zwischen 24 Stunden und 2 Wochen anhielt.

Das oben beschriebene Verschwinden und Wiederauftreten der Sofortpigmentierung wurde von Kaidbey und Kligman nicht beobachtet.

Über den biochemischen Ablauf der UV-A Sofortpigmentierung herrscht noch keine Klarheit.

Diskutiert wird eine sofortige, durch UV-A bedingte Oxidation von bereits vorgebildetem Leukomelanin zu Melanin (Langner und Kligman, 1972) und ein durch UV-A hervorgerufener Austritt von perinukleären Melanosomen in die Dendriten der Melanozyten (Jimbow et al., 1973). Letzteres wurde von Lavker und Kaidbey (1982) bestätigt, die an mit UV-A bestrahlten Hautproben ultrastrukturell eine intrazelluläre Migration und Dispersion gepackter Melanosomen von der normalen aggregierten Anordnung um den Kern in die Peripherie der Keratinozyten nachweisen konnten. Diese Veränderungen fanden sich nicht nach UV-B Bestrahlung. Ryckmanns et al. (1983) fanden bei UV-A bestrahlter Haut jedoch keine nennenswerte Zunahme der Dichte und Größe der Melanozyten und auch keine höhere Zahl an Melanosomen im Vergleich mit unbestrahlter Haut.

Neuere Arbeiten von Willis et al. (1973) und Spiegel et al. (1978) zeigen, daß UV-A in Suberythemdosen die erythemogene Wirkung von UV-B verstärkt auf der Grundlage einer Addition oder Potenzierung. Dafür wurde der Begriff Photoaugmentation geprägt (Willis et al., 1973).

1.4. Phototoxizität und Photoallergie

Neben den akuten oder chronischen Lichtschäden gibt es Photoreaktionen, die durch exogene oder endogene sensibilisierende Substanzen in Verbindung mit UV-Licht hervorgerufen werden. Man unterscheidet dabei die phototoxische Reaktion von der photoallergischen Reaktion (Harber et al., 1972).

Dabei stellt die phototoxische Reaktion einen akuten Lichtschaden im Sinne einer verstärkten Sonnenbrandreaktion mit Erythem, Ödem, Blasen und nachfolgender Spätpigmentierung dar. Das auslösende Aktionsspektrum ist oft schmal (meist UV-A), die Hautveränderung scharf auf lichtexponierte Areale begrenzt und die Reaktion bei fast allen exponierten Personen schon bei erstmaligem Kontakt auslösbar (Jung, 1980). Einige der wichtigsten phototoxisch wirkenden Substanzen sind Furokumarine (5- und 8-Methoxypsoralen), Chlorpromazin, Sulfonamide und Tetrazykline, Teerprodukte und Farbstoffe wie Methylenblau (Parrish et al., 1979).

Die Photoallergie stellt eine Sonderform der allergischen Spätreaktion der Haut vom ekzematösen Typ dar. Das klinische Bild ist polymorph, ekzemähnlich, unscharf begrenzt mit Streuung und das Aktionsspektrum hauptsächlich

im UV-A Bereich. Es tritt nur bei sensibilisierten Personen auf. Einige der wichtigsten photoallergisch wirkenden Substanzen sind Sulfonamide, Duftstoffe wie Ambrette Moschus (Galosi und Flewig, 1982), halogenierte Salizylanilide, Sonnenschutzmittel wie p-Aminobenzoesäure und Benzophenone (Hölzle und Flewig, 1982) sowie Phenothiazine (Emmett, 1978). In den letzten Jahren wurden durch Pflanzenextrakte wie Chrysanthemen ausgelöste Photoallergien beobachtet (Frain-Bell et al., 1979). Aus einer Photoallergie kann sich eine persistierende Lichtreaktion entwickeln. Dabei werden die ekzematösen Veränderungen durch Sonnenexposition allein ohne Zufuhr des Allergens ausgelöst (Harber et al., 1972). Die persistierende Lichtreaktion kann zum sogenannten aktinischen Retikuloid führen, einer chronischen, retikulozytären Reaktion mit stark juckenden, lichenoiden und teilig infiltrierten Veränderungen an lichtexponierten Hautstellen (Johnson et al., 1979). Es wurden Fälle mit Übergängen zu malignen Lymphomen beschrieben (Jung, 1980).

Neben den Photoallergien mit bekanntem Photosensibilisator gibt es idiopathische Photodermatosen, bei denen ein noch unbekanntes auslösendes Agens vermutet wird. Dazu zählen die Lichturtikaria und die polymorphe Lichtdermatose (PLE) (Flewig et al., 1979). Letztere, auch bekannt unter dem Namen "solar eczema" oder "summer prurigo"

ist eine meistens saisonal auftretende, bei verschiedenen Patienten polymorph, beim einzelnen fast immer monomorph erscheinende Erkrankung der lichtexponierten Areale. Sie konnte unter Laborbedingungen durch UV-A reproduziert werden (Hölzle et. al.,1982).

Schon im Altertum, vor allem in Ägypten, war die sensibilisierende Wirkung verschiedener Substanzen (Ammi majus Linn.) in Verbindung mit (UV-) Licht bekannt. In neuerer Zeit beschrieb El Mofty 1948 zum erstenmal deren therapeutische Anwendung. Daraus entwickelte sich die Photochemotherapie als die Kombination von langwelligem UV-Licht (UV-A) mit einer Substanz aus der Gruppe der Furokumarine, dem Psoralen. Die Photochemotherapie (PUVA-Therapie; PUVA=Psoralen+UV-A) löst eine steuerbare phototoxische Reaktion in der Haut aus (Braun-Falco et al.,1978). Die molekularebiologischen Vorgänge in der Haut bei der Photochemotherapie beruhen im wesentlichen auf einer Bindung des Psoralens an Pyrimidinbasen der DNS der Epidermiszellen, die somit in ihrer Synthese gehemmt wird (Walter et al., 1973). Das Psoralen kann entweder als Lösung oder Emulsion vor der Bestrahlung auf die befallenen Hautpartien aufgetragen oder als Tabletten eingenommen werden. Vor der ersten Bestrahlung wird die minimale phototoxische Dosis (MPD) bestimmt (Hofmann et al.,1976).

Die wichtigsten Indikationen für die Photochemotherapie sind Psoriasis und kutane Lymphome (Mycosis fungoides, Sezary-Syndrom). Behandelt werden auch aktinisches Retikuloid, Vitiligo, polymorphe Lichtdermatose (Hölzle et al., 1982), persistierende Lichtreaktion (Galosi et al., 1982) und Lichturtikaria (Keahey et al., 1981) neben weiteren chronischen Dermatosen.

1.5. Lichtschutz, Lichtschutzmittel, Lichtschutzfaktor

Bei der Behandlung von Lichtdermatosen ist Lichtschutz durch geeignete Präparate eine wesentliche Maßnahme. Neben Lippenstiften und Abdecksalben, die Titaniumdioxid und Zinkoxid enthalten (Labiosan^R), gibt es eine Anzahl von Lichtschutzmitteln, die Strahlung bestimmter Wellenlängen absorbieren (Pathak, 1982). Ein Absorptionsspektrum im UV-B Bereich besitzen Substanzen wie Salizylsäure und deren Derivate, Benzophenone, Tannin p-Aminobenzoessäure und deren Derivate, Sulfanilamide, Naphthalinderivate, Pyrazolone und Campherderivate (Algra und Knox, 1978). Diese Substanzen sind jedoch zur Prophylaxe

von Photodermatosen, die durch UV-A und sichtbares Licht hervorgerufen werden können (Photoallergie, aktinisches Retikuloid, polymorphe Lichtdermatose), nicht ausreichend. In diesem Fall sind Substanzen erforderlich, die ein breites Absorptionsspektrum unter Einschluß des UV-A besitzen. Hierzu gehören beispielsweise Benzyliden-Derivate und Benzophenone.

Die Lichtschutzwirkung eines Präparates wird durch den Lichtschutzfaktor nach Schulze angegeben. Dieser Lichtschutzfaktor besagt, um wievielmals länger die Haut nach Applikation des Lichtschutzmittels der Sonne ausgesetzt werden kann, bevor die Erythemschwelle erreicht wird (Schulze, 1956). Bei der Bestimmung dieses Wertes ergeben sich durch verschiedene störende Einflüsse große Fehlermöglichkeiten. Zu den Faktoren, die die Lichtschutzwerte beeinflussen, gehören neben der Lichtquelle (abweichendes Spektrum ergibt abweichende Lichtschutzfaktoren), dem Testzeitraum, dem Testareal und der Dosimetrie (Kaidbey und Kligman, 1978) auch der Hauttyp. Allgemein üblich ist heute eine Unterteilung der individuellen Hautreaktion auf Sonnenbestrahlung in sechs Hauttypen (Parrish et al., 1979). Hauttyp I zeigt bei Sonnenexposition immer Rötung und keine Pigmentierung; Hauttyp II meist Rötung und Sonnenbrand, wenig Pigmentierung; Hauttyp III zeigt manchmal Rötung, meist aber deutliche Pigmentierung nach Sonnen-

exposition; und Hauttyp IV nie Rötung und Sonnenbrand, dagegen immer überdurchschnittliche Pigmentierung. Hauttyp V repräsentiert sehr stark pigmentierte, dunkelhäutige Menschen (Südeuropäer, Inder) und Hauttyp VI Neger.

Neben diesen Hauttypen spielen bei der Lichtschutzfaktorbestimmung Präparatgrundlage (öl- oder wasserlöslich) und Konzentration des Lichtschutzmittels eine große Rolle (Charlet und Finkel, 1977). Wichtig ist außerdem der Verteilungskoeffizient zwischen Präparategrundlage und Hornschicht. Hoher Wassergehalt begünstigt das Eindringen des Filterstoffes in die Hornhaut (Ippen und Perschmann, 1970).

Die Lichtschutzfaktorbestimmung erfolgt so, daß bei einer Testgruppe von 15-20 Personen Erythentreppen unterschiedlich bestrahlter Testfelder ("Lichttreppe" nach Wucherpfennig, 1931) nebeneinander angelegt werden. Dabei wird ungeschützte Haut mit geschützter Haut verglichen. Die Erythemschwellentestfelder werden bestimmt und der Quotient aus den für die Erythemschwellen jeweils erforderlichen Dosen ergibt dann nach statistischer Überprüfung den Mittelwert (Tronnier, 1973).

Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in der schnellen, einfachen Durchführung und in der leichten Reproduzierbarkeit. Es besteht die Möglichkeit, mehrere Testsubstanzen

gleichzeitig und im Vergleich mit unbehandelter Haut erproben zu können. Als Kontrolle empfiehlt es sich, eine Substanz mit bekanntem Lichtschutzfaktor mitzutesten, um individuelle Einflußgrößen auf die zu untersuchenden Substanzen korrigieren zu können.

Im Gegensatz zu dieser, für den UV-B Bereich allgemein anerkannten Prüfmethode gibt es für den UV-A Bereich kein geeignetes Testverfahren. In vorliegender Arbeit werden Modelle zur Untersuchung der Wirksamkeit von Lichtschutzmitteln im UV-A Bereich vorgestellt und geprüft. Als Grundlage dienen die UV-A induzierte Pigmentierung und die phototoxische Reaktion (8-MOP-UVA).

1.6. Abkürzungen und Bewertungsschemata

Abkürzungen

Sofortpigmentierung oder IPD: immediate pigment darkening

Spätpigmentierung oder DT: delayed tanning

MPD: minimale phototoxische Dosis (kleinste UV-A Dosis, mit der eine gerade noch erkennbare phototoxische Reaktion hervorgerufen werden kann)

MTD: minimal tanning dose (kleinste UV-A Dosis, mit der eine gerade noch erkennbare bleibende Pigmentierung (Spätpigmentierung) hervorgerufen werden kann)

Bewertungsschemata

Die Stärke der Testreaktionen (IPD,DT,MTD,MPD) wurde graduell von 0 bis 3 bewertet.

Für die Beurteilung von Pigmentierungen (IPD,DT,MTD) wurde folgendes Schema verwendet:

Grad 0	keine Pigmentierung
Grad 1	geringgradige Pigmentierung
Grad 2	deutliche, scharf begrenzte Pigmentierung
Grad 3	starke, scharf begrenzte Pigmentierung

Für phototoxische Reaktionen (MPD) wurde folgendes Schema verwendet:

Grad 0	kein erkennbares Erythem
Grad 1	geringgradiges, gerade erkennbares Erythem
Grad 2	deutliches, scharf begrenztes Erythem
Grad 3	sehr starkes, scharf begrenztes Erythem und Ödem

2.MATERIAL und METHODEN

2.1. Personen

Die Testungen wurden an 44 Probanden im Durchschnittsalter von 46 (17 bis 75 Jahre) durchgeführt. Die 7 weiblichen und 37 männlichen Personen gehörten folgenden Hauttypen an:

Hauttyp I : 4 Personen

Hauttyp II: 16 Personen

Hauttyp III: 21 Personen

Hauttyp IV : 3 Personen

Testareal war der gering pigmentierte Rücken.

2.2. Bestrahlungsgeräte

Für die UV-A Bestrahlungen diente ein UV-A Hochintensitätsgerät (UVASUN 5000, Mutzhas, München). Es emittiert ein diskontinuierliches, hochenergetisches UV-A Spektrum (84%) und wenig sichtbares Licht (16%). Das Emissionsspektrum liegt zwischen 320 und 460 nm mit einem Strahlungsmaximum bei 370 nm (Mutzhas et al., 1981).

Der Bestrahlungsabstand betrug 40 cm.

Die Dosismessung erfolgte mit einem UV-Meßgerät (Centra^R, Osram).

Für UV-B Bestrahlungen wurde ein Handgerät mit sechs Philips-UV-Lampen TL/12/20 W verwendet. Sie emittieren ein diskontinuierliches Spektrum zwischen 280 und 380 nm. Der Intensitätsgipfel liegt bei 310 nm und der Hauptenergieanteil zwischen 290 und 340 nm.

2.3. Testsubstanzen

1) Contralum-Ultra-Creme Eine inzwischen im Handel befindliche, von der Firma Hermal-Chemie Kurt Herrmann, Reinbek, entwickelte Sonnenschutzcreme. Sie enthält als UV-Filter Methylbenzyliden-Campher und Phenyl-1,3-propandion in jeweils fünfprozentiger Konzentration.

2) Contralum-Ultra-Creme-unkonserviert Dieselbe Zusammensetzung wie bei 1, aber ohne den Konservierungsstoff Pyrithionzink.

3) Salbengrundlage von Contralum-Ultra, die unter anderem Sorbinmonooleat und emulgierenden Stearylalkohol, allerdings keine lichtabsorbierenden Wirkstoffe enthält.

4) Die aus dem Handel bekannten Lichtschutzpräparate:
Piz-Buin, Faktor-3-Creme (Greiter AG, Weidling, Österreich)
Piz-Buin, Faktor-6-Creme (Greiter AG, Weidling, Österreich)
Sie enthalten als UV-Filter Athyl-hexyl-p-methoxy-Cinnamat in 3,5%iger (Faktor-3-Creme) und 4,5%iger (Faktor-6-Creme) Konzentration. Zusätzlich enthält Faktor-6-Creme 2-hydroxy-4-methoxybenzophenon in 3%iger Konzentration.

5) Ein UV-Lichtschutzfilter AV-UV-205 BS (Dr. Thomae, Biberach/Riss) mit dem Wirkstoff Phenylpyridylpropandion, der in einem weißen vaselineartigen Lipogel (Neribas-Creme ^R) in 0,1-, 1,0 und 5,0%iger Konzentration getestet wurde.

2.4. Versuchsanordnung

2.4.1. Modell zur Untersuchung der UV-A Spätpigmentierung

1) Bestimmung der MTD mit und ohne Lichtschutzmittel

Bei sechs Personen wurde auf unbehandelter Rückenhaut die MTD durch Bestrahlung mit ansteigenden Dosen UV-A (bis 30 J/cm^2) bestimmt.

In einer zweiten Testreihe wurde Contralum-Ultra aufgetragen und nach zwanzigminütiger Einwirkzeit mit gleichen Dosen UV-A bestrahlt.

Die Ablesung erfolgte nach 24 Stunden.

II) Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf die UV-A Spät-pigmentierung der Haut

Ein Testareal von 10x15 cm wurde bei sechs Testpersonen dreimal im Abstand von je 24 Stunden mit je $40\text{J}/\text{cm}^2$ UV-A bestrahlt. Im oberen Anteil des Feldes wurde das konservierte, im unteren das unkonservierte Lichtschutzmittel aufgetragen (Abb.1). Das mittlere Areal blieb frei und diente als Kontrollfeld.

Jeweils zwanzig Minuten nach Bestrahlung wurde abgelesen.

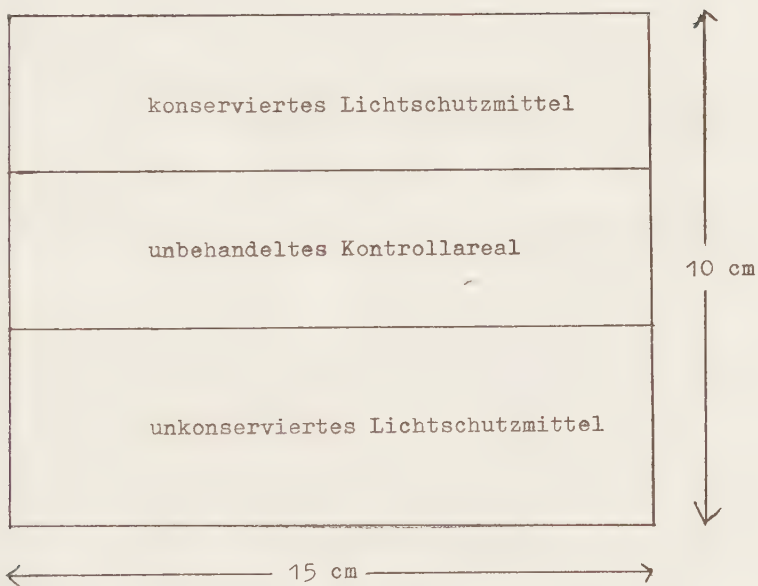


Abb.1 Testareal am Rücken

2.4.2. Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf eine phototoxische Reaktion (8-MOP-UV-A)

I) Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen 8-MOP und UV-A

Bei sieben Personen wurden auf einer Fläche von 12x12 cm 16 (4x4) Testfelder von je 1 cm Durchmesser angelegt (Abb.2). Testreihe 1 wurde mit 0,01%, Testreihe 2 mit 0,05% und Testreihe 3 mit 0,15% 8-MOP-Lösung behandelt. Auf die 4. Testreihe wurde zur Kontrolle Isopropylalkohol (Lösungsmittel der handelsüblichen 0,15% igen 8-MOP-Lösung Meladinine) appliziert. Nach einer Stunde wurde mit von oben nach unten ansteigenden UV-A Dosen (0,2; 0,5; 1,0; 1,5 J/cm²) bestrahlt. Nach 48 Stunden wurde abgelesen.

II) Einfluß eines Lichtschutzmittels auf die lokale phototoxische 8-MOP-UV-A Reaktion

Bei fünf Patienten wurden ähnliche Testreihen wie oben beschrieben verwendet.

UV-A Dosis J/cm^2	Reihe 1	Reihe 2	Reihe 3	Reihe 4
	8-MOP-Konzentration			Kontrolle
	0,01%	0,05%	0,15%	
0,2				
0,5				
1,0				
1,5				

12 cm

12 cm

Abb.2 Testverfahren zur Ermittlung der Dosis-
Wirkungsbeziehung zwischen 8-MOP und UV-A

Testreihe 1 und 2 wurden mit 0,15% iger 8-MOP-Lösung behandelt. Auf Testreihe 2 wurde 50 Minuten nach 8-MOP Applikation Contralum-Ultra als gleichmäßiger Film aufgetragen. Testreihe 1 blieb ohne Lichtschutzmittel. Die Bestrahlung erfolgte nach einer Stunde mit ansteigenden UV-A Dosen (1,0; 1,2; 1,4; 1,6 J/cm²).

III) Blockierung der phototoxischen 8-MOP-UV-A Reaktion durch Lichtschutzmittel

a) Standardverfahren

Bei sieben Patienten wurde eine Stunde nach lokaler Behandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung das Testareal ansteigend mit 0,5; 1,0; 1,5 und 2,0 J/cm² UV-A bestrahlt. Zehn Minuten vor der Bestrahlung wurde auf die 1. Testreihe Piz-Buin-3-Creme aufgetragen, die 2. Testreihe blieb ohne Lichtschutz; Testreihe 3 wurde mit Piz-Buin 6-Creme und Testreihe 4 mit Contralum-Ultra behandelt. Die Lichtschutzmittel wurden als gleichmäßiger Film aufgetragen.

b) modifiziertes Verfahren

Bei sieben Patienten wurden eine Stunde nach lokaler 0,15% 8-MOP Behandlung die beiden ersten Testreihen ansteigend mit 0,5; 1,0; 1,5 und 2,0 J/cm² UV-A bestrahlt. Die 1. Testreihe blieb ohne Lichtschutz, auf die 2. Testreihe wurde Contralum-Salbengrundlage aufgetragen.

Testreihe 3, die mit Piz-Buin-6 -Creme behandelt wurde, erhielt ansteigend 1,5; 3,0; 4,5 und 6,0 J/cm² UV-A. Testreihe 4 wurde zwanzig Minuten nach lokaler Contralum-Ultra Applikation mit 2,5; 6,0; 7,5 und 10,0 J/cm² UV-A bestrahlt.

Die unterschiedlichen UV Dosen waren erforderlich, um einerseits unbehandelte Haut nicht durch hohe UV-A Dosen zu schädigen, andererseits bei den hohen Lichtschutzfaktoren von Piz-Buin-6-Creme und Contralum-Ultra-Creme noch eine erkennbare Reaktion zu erhalten.

IV) UV-A Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205 in verschiedenen Konzentrationen nach lokaler Vorbehandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung

Fünfzig Minuten nach lokaler Behandlung mit 0,15% 8-MOP-

Lösung wurde bei sechs Patienten auf die 2., 3. und 4. Testreihe 0,1 bzw. 1,0 und 5,0% AV-UV-205 appliziert. Die 1. Testreihe blieb als Kontrolle unbehandelt. Ansteigend wurde mit 0,5; 1,0; 1,5 und 2,0 J/cm² UV-A bestrahlt.

V) UV-B Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205

Bei sechs Patienten wurde ohne lokale 8-MOP Vorbehandlung auf die 2., 3. und 4. Testreihe 0,1 bzw. 1,0 und 5,0% AV-UV-205 in Form eines gleichmäßig dünnen Films appliziert. Die 1. Testreihe blieb als Kontrolle unbehandelt. Zehn Minuten danach wurde ansteigend mit 40, 60, 80 und 100 mJ/cm² UV-B bestrahlt. Abgelesen wurde nach 24 Stunden.

2.5. Statistische Bearbeitung

Die Ergebnisse wurden gruppenweise nach dem student's-t-Test für verbundene Stichproben ausgewertet. Für jede

Gruppe wurde der Mittelwert mit Standardabweichung sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p bestimmt.

2.6. Histologische Untersuchungen

Bei zwei der unter Abschnitt 2.4.2. III b beschriebenen Probanden (Hauttyp III) wurden 48 Stunden nach Bestrahlung vier Probeexzisionen entnommen. Bei beiden Personen waren die Testareale mit 0,15% 8-MOP-Lösung vorbehandelt worden.

Angaben über UV-A Dosis und Testsubstanzen der Testareale sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Patient	Testsubstanz	Dosis (J/cm ²)
1	Ø	1,0
	Contralum-Grundlage	1,0
	Piz-Buin-6 -Creme	3,0
	Contralum-Ultra	6,0
2	Ø	2,0
	Contralum-Grundlage	2,0
	Piz-Buin-6 -Creme	6,0
	Contralum-Ultra	10,0

Tabelle 1 Je vier Biopsien von zwei Patienten.
 Unterschiedliche UV-A Dosen und
 verschiedene Testsubstanzen wurden
 verwendet.

3. ERGEBNISSE

3.1. Modell zur Untersuchung der UV-A Spätpigmentierung

I) Bestimmung der MTD mit und ohne Lichtschutzmittel

Entsprechend dem Bewertungsschema ergab sich bei sechs Personen eine MTD von $13,3 \pm 5,2 \text{ J/cm}^2$ bei ungeschützter und eine MTD von $20,0 \pm 6,3 \text{ J/cm}^2$ bei Contralum-Ultra-Creme-geschützter Haut. Das Ergebnis ist nach dem student's-t-Test für paarweise Anordnung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ signifikant.

Als weiteres Kriterium für die UV-A Wirksamkeit von Lichtschutzmitteln bot sich neben der MTD die für eine deutliche, scharf begrenzte Pigmentierung gemäß Grad 2 des Bewertungsschemas erforderliche Dosis an. Diese war bei ungeschützter Haut $28,3 \pm 9,8 \text{ J/cm}^2$ und bei durch Contralum-Ultra-Creme geschützter Haut $36,7 \pm 8,1 \text{ J/cm}^2$. Hierbei war statistisch keine Signifikanz nachweisbar.

II) Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf die UV-A Spätpigmentierung der Haut

Nach wiederholten Bestrahlungen mit 40 J/cm^2 im Abstand von vierundzwanzig Stunden ergab sich bei

sechs Personen bei erstmaliger Bestrahlung ein Pigmentierungsgrad von $1,8 \pm 0,75$, nach der zweiten Bestrahlung $2,3 \pm 0,8$, nach der dritten Bestrahlung $2,3 \pm 0,5$ und nach der vierten Bestrahlung $2,5 \pm 0,6$.

Auf der mit Contralum-Ultra-Creme vorbehandelten Haut ergab sich bei erstmaliger Bestrahlung ein Pigmentierungsgrad von $1,0 \pm 0,6$, nach der zweiten Bestrahlung von $1,2 \pm 0,8$, nach der dritten Bestrahlung von $1,3 \pm 0,8$ und nach der vierten Bestrahlung von $1,3 \pm 0,8$. Ein Unterschied in der Wirkung von Contralum-Ultra-Creme (konservierte Form) und Contralum-Ultra-un-konserviert-Creme war nicht zu beobachten.

Eine statistische Signifikanz mit $p < 0,05$ konnte im Vergleich des Pigmentierungsgrades von un-behandelter mit durch Contralum-Ultra-Creme behandelter Haut bei Sofort-, 24-Stunden-, 48-Stunden- und 72-Stunden-Pigmentierung nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse dieser Gruppe sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

	PIGMENTIERUNGSGRAD			
	Sofort	24 h	48 h	72 h
Unbehandelte Haut (N=6)	1,8 $\pm$ 0,7	2,3 $\pm$ 0,8	2,3 $\pm$ 0,5	2,5 $\pm$ 0,6
Contralum-Ultra-Creme behandelte Haut (N=6)	1,0 $\pm$ 0,6 p < 0,05	1,2 $\pm$ 0,8 p < 0,05	1,3 $\pm$ 0,8 p < 0,05	1,3 $\pm$ 0,8 p < 0,05

Tabelle 2 Ablauf der Spätpigmentierung an unbehandelter und mit einem Lichtschutzmittel behandelte Haut

3.2. Einfluß von Sonnenschutzmitteln auf eine phototoxische Reaktion (8-MOP-UV-A)

I) Bestimmung der Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen 8-MOP und UV-A

Achtundvierzig Stunden nach Bestrahlung von mit Isopropylalkohol oder 0,01% 8-MOP-Lösung vorbehandelter Haut war die minimale phototoxische Dosis (MPD) größer als $1,5 \text{ J/cm}^2$ UV-A.

Bei Anwendung von 0,05% 8-MOP-Lösung betrug die MPD $0,9 \pm 0,35 \text{ J/cm}^2$ und bei handelsüblicher 0,15% 8-MOP-Lösung $0,5 \pm 0,25 \text{ J/cm}^2$ UV-A.

Beim statistischen Vergleich der beiden letzteren Konzentrationen war der Unterschied signifikant mit $p < 0,025$.

Nimmt man als Kriterium Grad 2 des Bewertungsschemas, so ergibt sich für Isopropylalkohol und 0,01% 8-MOP-Lösung eine UV-A Schwellendosis über $1,5 \text{ J/cm}^2$. Für 0,05% 8-MOP-Lösung ergibt sich eine Dosis von $1,4 \pm 0,3 \text{ J/cm}^2$ UV-A und für 0,15% 8-MOP-Lösung $1,0 \pm 0,3 \text{ J/cm}^2$ UV-A ($p < 0,05$). (Siehe auch Tabelle 3)

	Minimale Phototoxische Dosis (MPD) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu Grad-2-Reaktion führt (J/cm ²)
Isopropyl- alkohol	>1,5	>1,5
0,01% 8-MOP	>1,5	>1,5
0,05% 8-MOP	0,9± 0,35	1,4± 0,3
0,15% 8-MOP	0,5± 0,25	1,0± 0,3

Tabelle 3 Reduzierung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD) und der überschwelligen phototoxischen Reaktion (Grad 2) durch Konzentrationserhöhung von 8-MOP

II) Einfluß eines Lichtschutzmittels auf die
lokale phototoxische 8-MOP-UV-A Reaktion

Die minimale phototoxische Dosis (MPD) betrug bei der mit 0,15% 8-MOP-Lösung behandelten und nicht durch Contralum-Ultra-Creme geschützten Testreihe $0,7 \pm 0,3 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Die durch Contralum-Ultra-Creme geschützte Testreihe zeigte eine MPD, die über $1,6 \text{ J/cm}^2$ UV-A lag. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant.

Nach Grad 2 des Bewertungsschemas ergab sich eine deutliche phototoxische Reaktion bei $1,0 \pm 0,3 \text{ J/cm}^2$. Die Dosis, bei der die mit Contralum-Ultra-Creme behandelte Haut eine deutliche phototoxische Reaktion zeigte, lag über $1,6 \text{ J/cm}^2$ UV-A (Tabelle 4). Auch hier war keine statistische Signifikanz nachweisbar.

	Minimale Phototoxische Dosis (MPD) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu einer Grad-2- Reaktion führt (J/cm ²)
0,15% 8-MOP ohne Licht- schutz	0,7 ± 0,3	1,0 ± 0,3
0,15% 8-MOP mit Licht- schutzmittel	> 1,6	>1,6

Tabelle 4 Erhöhung der für eine phototoxische Reaktion notwendigen UV-A Dosis durch Vorbehandlung mit einem Lichtschutzmittel

III) Blockierung der phototoxischen 8-MOP-UV-A
Reaktion durch Lichtschutzmittel

a) Standardverfahren

Bei den mit 0,15% 8-MOP-Lösung vorbehandelten Personen betrug die minimale phototoxische Dosis (MPD) ungeschützter Haut $0,9 \pm 0,6 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Die MPD von mit Piz-Buin-3-Creme behandelter lag bei $0,5 \pm 0,1 \text{ J/cm}^2$, nach Piz-Buin-6-Creme Behandlung bei $1,9 \pm 0,9 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Im Vergleich konnte eine statistische Signifikanz mit $p < 0,05$ nachgewiesen werden. Die mit Contralum-Ultra-Creme behandelte Testreihe wies eine MPD von über $2,0 \text{ J/cm}^2$ auf (Tabelle 5).

Nach Grad 2 des Bewertungsschemas war die Dosis für eine deutliche phototoxische Reaktion auf ungeschützter Haut $1,6 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$, nach Behandlung mit Piz-Buin-3-Creme $1,1 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$, nach Applikation von Piz-Buin-6-Creme $2,0 \pm 0,9 \text{ J/cm}^2$ und nach Contralum-Ultra-Behandlung über $2,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A (Tabelle 5).

Zwischen allen Gruppen war der Unterschied mit $p < 0,05$ signifikant.

	Minimale Phototoxische Dosis (MPD) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu einer Grad-2- Reaktion führt (J/cm ²)
Ohne Lichtschutz	0,9 ± 0,6	1,6 ± 0,7
Mit Piz-Buin- 3-Creme	0,5 ± 0,1	1,1 ± 0,7
Mit Piz-Buin- 6-Creme	1,9 ± 0,9	2,0 ± 0,9
Mit Contra- lum-Ultra- Creme	>2,0	>2,0

Tabelle 5 Erhöhung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD) und der Grad-2 phototoxischen Reaktionen nach Anwendung von Lichtschutzmitteln

b) modifiziertes Verfahren

Nach Anwendung von 0,15% 8-MOP lag die minimale phototoxische Dosis (MPD) für ungeschützte Haut bei $0,7 \pm 0,4 \text{ J/cm}^2$.

Mit Contralum-Ultra-Salbengrundlage behandelte Haut zeigte eine MPD von $0,6 \pm 0,5 \text{ J/cm}^2$. Die mit Piz-Buin-6-Creme geschützte Haut wies eine MPD von $2,6 \pm 2,2 \text{ J/cm}^2$ auf, während sich an der durch Contralum-Ultra-Creme geschützten Haut eine MPD von $8,3 \pm 2,3 \text{ J/cm}^2$ ergab (Tabelle 6). Der Unterschied war zwischen allen Gruppen mit $p < 0,05$ statistisch signifikant.

Nach Grad 2 des Bewertungsschemas war die Dosis für eine deutliche phototoxische Reaktion auf ungeschützter Haut $2,0 \pm 0,5 \text{ J/cm}^2$, bei mit Contralum-Ultra-Salbengrundlage behandelter Haut $1,3 \pm 0,9 \text{ J/cm}^2$, bei mit Piz-Buin-6-Creme geschützter Haut $5,6 \pm 2,0 \text{ J/cm}^2$, und bei mit Contralum-Ultra-Creme geschützter Haut $11,4 \pm 1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A ($p < 0,025$) (Tabelle 6).

	Minimale Phototoxische Dosis (MPD) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu einer Grad-2- Reaktion führt (J/cm ²)
Ohne Lichtschutz	0,7 ± 0,4	2,0 ± 0,5
Contralum- Salbengrund- lage	0,6 ± 0,5	1,3 ± 0,9
Piz-Buin-6- Creme	2,6 ± 2,2	5,6 ± 2,0
Contralum- Ultra-Creme	8,3 ± 2,3	11,4 ± 1,0

Tabelle 6 Einfluß verschiedener Lichtschutz-
mittel auf die minimale phototoxische
Dosis (MPD) und Grad 2 phototoxische
Reaktionen

IV) UV-A Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205
in verschiedenen Konzentrationen nach lokaler
Vorbehandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung

Die minimale phototoxische Dosis (MPD) nach Vorbehandlung mit 0,15% 8-MOP-Lösung lag bei $1,2 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$ UV-A, nach 0,1% AV-UV-205-Creme Behandlung bei $1,0 \pm 0,8$, nach 1,0% AV-UV-205-Creme Behandlung bei $1,2 \pm 0,7$ und nach 5,0% AV-UV-205-Creme Behandlung bei $1,3 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$ (Tabelle 7). Signifikante Unterschiede waren nicht feststellbar. Nach Grad 2 des Bewertungsschemas ergab sich für nicht durch ein Lichtschutzmittel behandelte Haut eine deutliche Erythemreaktion bei $1,8 \pm 0,6 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Mit 0,1% AV-UV-205-Creme behandelte Haut zeigte eine deutliche phototoxische Reaktion bei $1,8 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$ UV-A; diese Werte lagen nach Anwendung von 1,0 oder 5,0% AV-UV-205-Creme bei $2,0 \pm 0,8$ beziehungsweise bei $2,1 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$ UV-A (Tabelle 7).

Auch hier waren keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

	Minimale Phototoxische Dosis (MPD) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu einer Grad-2- Reaktion führt (J/cm ²)
Ohne Lichtschutz	1,2 ± 0,7	1,8 ± 0,6
0,1% AV-UV- 205-Creme	1,0 ± 0,8	1,2 ± 0,7
1,0% AV-UV- 205-Creme	1,2 ± 0,7	2,0 ± 0,8
5,0% AV-UV- 205-Creme	1,3 ± 0,7	2,1 ± 0,7

Tabelle 7 Die Substanz AV-UV-205 hat zwischen 0,1 und 5,0% Konzentration keinen Einfluß auf die minimale phototoxische Dosis (MPD) oder eine Grad 2 phototoxische Reaktion.

V) UV-B Testung des Sonnenschutzmittels AV-UV-205

Die minimale Erythemdosis (MED) für normale Haut lag bei $0,05 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$ UV-B. Mit 0,1% AV-UV-205-Creme behandelte Haut zeigte eine MED von $0,05 \pm 0,03$; nach 1,0 und 5,0% AV-UV-205-Creme-Vorbehandlung ergab sich eine MED von jeweils $0,06 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$ UV-B (Tabelle 8).

Signifikante Unterschiede waren nicht feststellbar. Nach Grad 2 des Bewertungsschemas ergab sich bei ungeschützter Haut eine deutliche Erythemreaktion bei einer UV-B Dosis von $0,10 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$; nach 1,0 und 5,0% AV-UV-205-Creme Behandlung waren jeweils $0,11 \pm 0,02 \text{ J/cm}^2$ UV-B für eine deutliche Erythemreaktion erforderlich (Tabelle 8).

	Minimale Erythem Dosis (MED) (J/cm ²)	Phototoxische Dosis, die zu einer Grad-2- Reaktion führt (J/cm ²)
Ohne Licht- schutzmittel	0,05 ± 0,03	0,10 ± 0,03
0,1% AV-UV- 205-Creme	0,05 ± 0,03	0,10 ± 0,03
1,0% AV-UV- 205-Creme	0,06 ± 0,03	0,11 ± 0,02
5,0% AV-UV- 205-Creme	0,06 ± 0,03	0,11 ± 0,02

Tabelle 2 Das Sonnenschutzmittel AV-UV-205 ist in der Konzentration von 0,1 bis 5,0% nicht im UV-B Bereich wirksam; gemessen an einer MED und einer Grad 2 phototoxischen Reaktion.

3.3. Histologische Untersuchungen

Patient Nr.1 (Abb. 3)

Präparat Nr. 1 von mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter, ungeschützter Haut, die mit 0,15% S-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

Lokalisationstypisches Epithel eines älteren Menschen mit Verlust des Papillarmusters. Keine lichtgeschädigten Zellen in der Epidermis, keine Parakeratose (Abb. 4).

Diagnose: Normale, altersentsprechende Haut ohne Zeichen einer phototoxischen Reaktion.

Präparat Nr. 2 von mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Contralum-Salbengrundlage behandelter Haut, die mit 0,15% S-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

Im Gegensatz zu Präparat Nr.1 basal und suprabasal einzelne lichtgeschädigte Zellen, sogenannte sunburn cells oder Spiegeleizellen (Spiegel et al., 1978), und ein geringes interzelluläres Ödem (Abb. 5).

Diagnose: Phototoxische Reaktion.

Präparat Nr. 3 von mit $3,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Piz-Buin-6-Creme geschützter Haut, die mit 0,15% 8-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

Im Gegensatz zu den Präparaten Nr.1 und Nr.2 eine deutlichere perivaskuläre Infiltration mit frischen Erythrozytenextravasaten dicht unter der Epidermis. Zahlreiche lichtgeschädigte Zellen basal und suprabasal, mit Spiegeleizellen, aber auch eosinophilen, dyskeratotischen Zellen (Abb. 6).

Diagnose: Ausgeprägte phototoxische Reaktion.

Präparat Nr. 4 von mit $6,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Contralum-Ultra-Creme geschützter Haut, die mit 0,15% 8-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

Analog Präparat Nr. 1 eine normal erscheinende Epidermis. Keine weitgestellten Gefäße, keine perivaskulären Infiltrate, keine Erythrozytenextravasate, keine auffällig lichtgeschädigten Zellen.

Diagnose: Normale, altersentsprechende Haut ohne Zeichen einer phototoxischen Reaktion.

Patient Nr.2 (Abb.7)

Präparat Nr.1 von mit $2,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter, ungeschützter Haut, die mit 0,15% S-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde:

Deutliche Nekrosen in der oberen und mittleren Epidermislage mit Einlagerung von Serumresten: Zahlreiche lichtgeschädigte Zellen: Vakuolige Auflockerung der Basalzellregion (Abb.8):

Diagnose: Akute phototoxische Reaktion:

Präparat Nr.2 von mit $2,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Contralum-Salbengrundlage behandelter Haut, die mit 0,15% S-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde:

Ähnlich wie Präparat Nr.1 eine stark ausgeprägte Epithelnekrose und Erythrozytenextravasate:

Diagnose: Akute phototoxische Reaktion:

Präparat Nr.3 von mit $6,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Piz-Euin-6-Creme geschützter Haut, die mit 0,15% 8-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

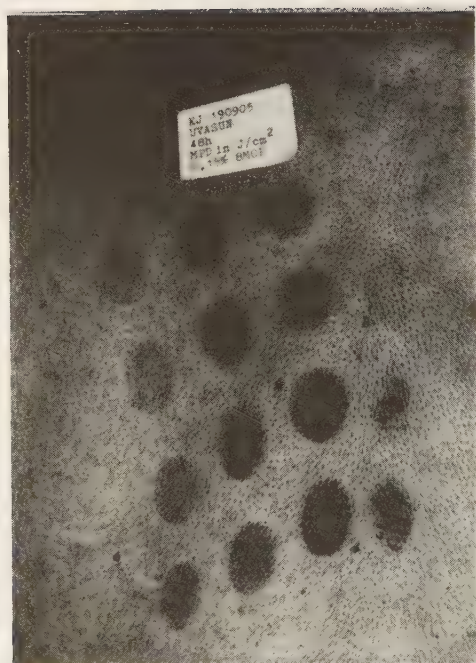
Im Gegensatz zu den Präparaten Nr.1 und Nr.2 eine normal konfigurierte Epidermis ohne wesentliche Zeichen einer Nekrose. Nur vereinzelt kommen sogenannte Spiegeleizellen vor. Keine entzündlichen Infiltrate und kein Ödem im oberen Korium (Abb.9).

Diagnose: Gering angedeutete phototoxische Reaktion.

Präparat Nr.4 von mit $10,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlter und mit Contralum-Ultra-Creme geschützter Haut, die mit 0,15% 8-MOP-Lösung lokal vorbehandelt wurde.

Keine phototoxische Reaktion, kein Ödem, keine Erythrozytenextravasate und keine perivaskulär orientierten lymphozytären Infiltrate.

Diagnose: Normale, altersentsprechende Haut ohne Zeichen einer phototoxischen Reaktion.



Ohne Licht- schutz	Contra- lum Grund- lage	Piz- Buin-6 Creme	Contra- lum- Ultra- Creme
0,5	0,5	1,5	2,5
1,0 Δ	1,0 Δ	3,0 Δ	6,0 Δ
1,5	1,5	4,5	7,5
2,0	2,0	6,0	10,0

Diagramm der verwendeten Licht-
schutzmittel und UV-A Dosen
(J/cm²).

Abb. 3 Testareal von Patient 1 48 Stunden nach Bestrahlung mit den im Diagramm angegebenen UV-A Dosen. Man erkennt in den mit Contralum-Ultra-Creme geschützten Testfeldern erst bei sehr hohen UV-A Dosen Erythemreaktionen. Aus den mit Δ gekennzeichneten Feldern wurden Biopsien entnommen.

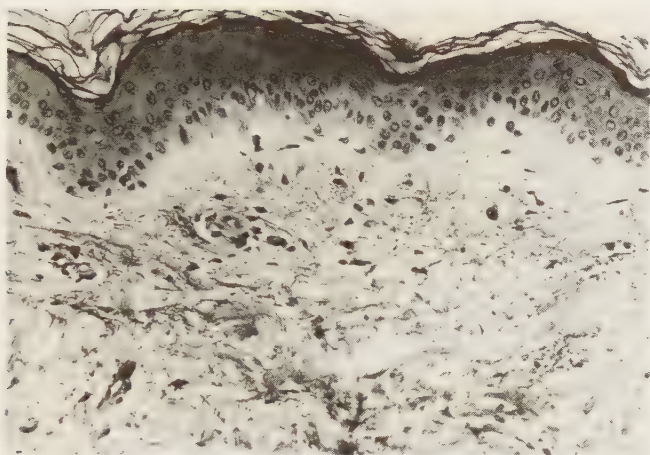


Abb.4

Legende S.50

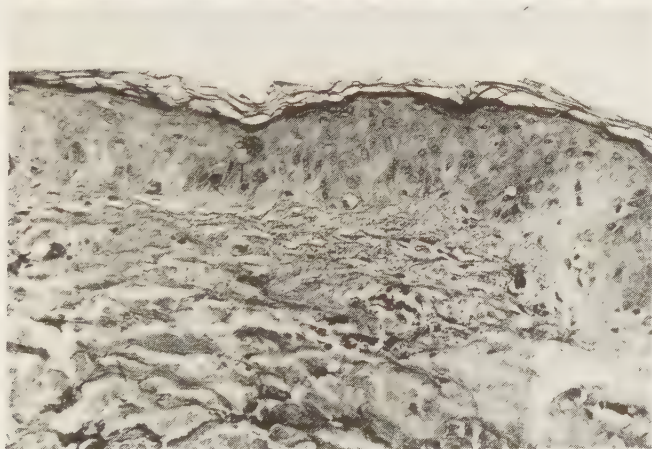


Abb.5

Legende S.50

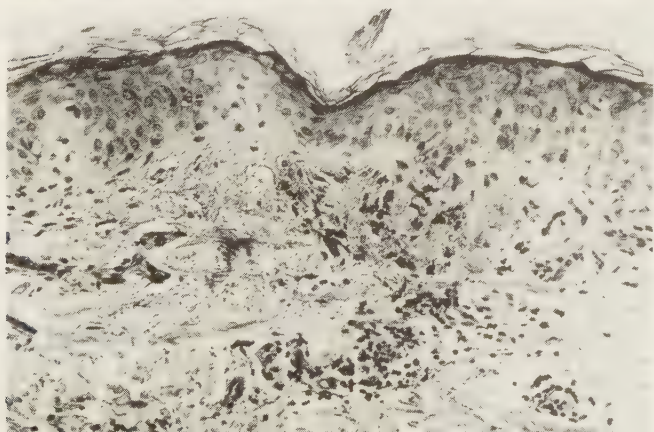


Abb.6

Legende S. 50

Abb. 4 Mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlte Haut ohne Lichtschutzmittel nach lokaler 0,15% 8-MOP Vorbehandlung. Normales, lokalisationsstypisches Epithelband ohne lichtgeschädigte Zellen und ohne Parakeratose. HE x210

Abb. 5 Mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlte und mit Contralum-Salbengrundlage behandelte Haut nach lokaler 0,15% 8-MOP Vorbehandlung. Phototoxische Reaktion mit basal und suprabasal lichtgeschädigten Zellen und interzellulärem Ödem. HE x 210

Abb. 6 Mit $3,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlte und mit Piz-Buin-6-Creme behandelte Haut nach lokaler 0,15% 8-MOP Vorbehandlung. Akute phototoxische Reaktion mit perivaskulären Infiltraten und Erythrozytenextravasaten dicht unter der Epidermis. Basal und suprabasal zahlreiche lichtgeschädigte Zellen. HE x 210

Ohne Lichtschutz	Contra- lum-Ultra Grundlage	Piz- Buin-6- Creme	Contra- lum-Ultra- Creme
0,5	0,5	1,5	2,5
1,0	1,0	3,0	6,0
1,5	1,5	4,5	7,5
2,0 Δ	2,0 Δ	6,0 Δ	10,0 Δ

Diagramm der verwendeten Lichtschutzmittel und UV-A Dosen (J/cm^2). Aus den mit Δ gekennzeichneten Feldern wurden Biopsien entnommen.

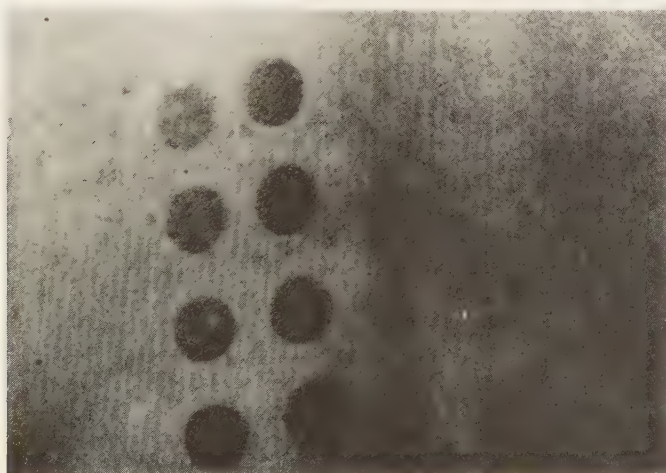


Abb.7 Testareal von Patient 2 48 Stunden nach Bestrahlung mit den im Diagramm angegebenen UV-A Dosen. Man erkennt in den mit Contralum-Ultra-Grundlage behandelten Feldern eine deutlichere Reaktion gegenüber unbehandelter Haut. Keine Reaktion auch bei hohen UV-A Dosen zeigen Piz-Buin-6 und Contralum-Ultra-Creme geschützte Felder.

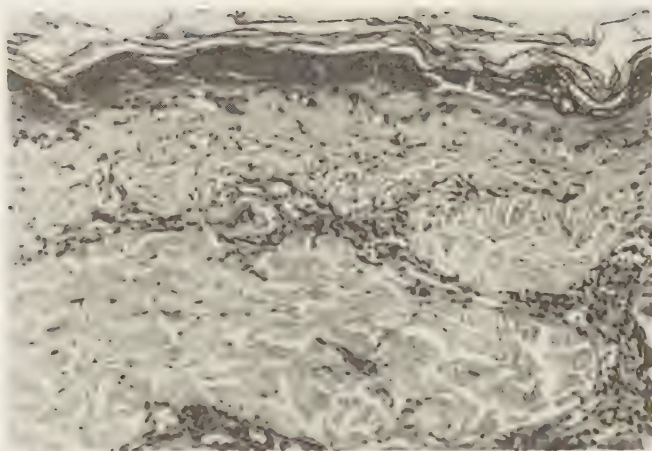


Abb. 8 Legende S. 53

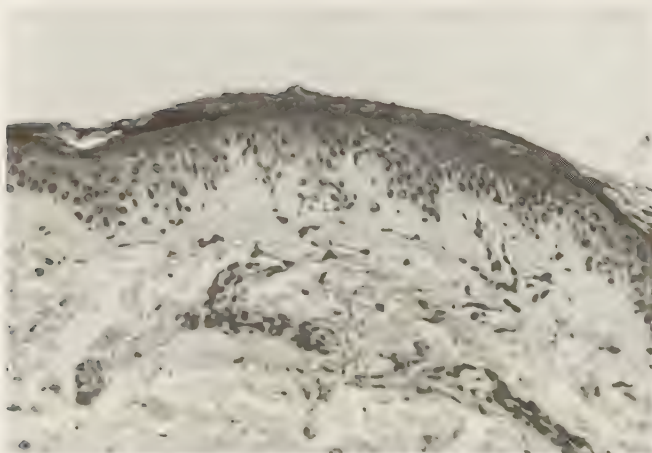


Abb. 9 Legende S. 53

Abb. 8 Mit $2,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlte Haut ohne Lichtschutzmittel nach lokaler 0,15% 8-MOP Vorbehandlung. Phototoxische Reaktion mit Nekrosen in der oberen und mittleren Epidermislage. Einlagerung von Serumresten, zahlreiche lichtgeschädigte Zellen und vakuolige Auflockerung der Basalzellregion. HE x 132

Abb. 9 Mit $6,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlte und mit Piz-Buin-6-Creme behandelte Haut nach lokaler 0,15% 8-MOP Vorbehandlung. Gering angedeutete phototoxische Reaktion mit vereinzelt lichtgeschädigten Zellen. Kein entzündliches Infiltrat und kein Ödem im oberen Korium. HE x 210

4. DISKUSSION

In der ersten Versuchsreihe wurde neben der Wirksamkeit von Lichtschutzmitteln im UV-A Bereich auch die Pigmentierung von menschlicher Haut durch UV-A untersucht. Dabei konnte eine mindestens 24 Stunden anhaltende Pigmentierung mit einer UV-A Schwellendosis (MTD) von $13,3 \pm 5,2 \text{ J/cm}^2$ erzielt werden. Diese trat sofort nach der Bestrahlung auf und blieb länger als 72 Stunden bestehen. Nach den Untersuchungen von Kaidbey und Kligman (1978) war die MTD für eine mindestens 24 Stunden anhaltende UV-A Pigmentierung $17,7 \pm 8,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Lavker und Kaidbey (1982) bestimmten die MTD mit $18,3 \pm 2,9 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Dabei ist zu berücksichtigen, daß besonders bei UV-A Reaktionen große individuelle Dosisunterschiede je nach Hauttyp bestehen. Außerdem besitzen verschiedene UV-A Quellen unterschiedliche spektrale Verteilungen. Da die Pigmentierung wellenlängenabhängig ist (die effektivste UV-A Wellenlänge ist nach Fischer, Salomon = 385 nm), ergeben sich zwangsläufig verschiedene Ergebnisse. Wenn man darüberhinaus die Schwierigkeit

von standardisierten docimetrischen Messungen (Challoner und Diffey, 1977) betrachtet, bieten unsere Ergebnisse eine gute Übereinstimmung mit den Messungen von Kaidbey und Kligman (1978) beziehungsweise Lavker und Kaidbey (1982). Durch wiederholte Bestrahlungen mit 40 J/cm^2 UV-A im Abstand von 24 Stunden konnte der Pigmentierungsgrad von anfänglich $1,8 \pm 0,75$ auf $2,5 \pm 0,6$ (entsprechend dem Bewertungsschema) nach der vierten Bestrahlung erhöht werden. Dies zeigt die Dosisabhängigkeit der UV-A Pigmentierung und damit der UV-A Melanogenese, was durch frühere Untersuchungen von Kaidbey und Kligman (1978) und Mutzhas et al. (1981) bestätigt wird.

Die UV-A absorbierende Wirkung von Contralum-Ultra-Creme zeigte sich in einer Erhöhung der MTD von $13,3 \pm 5,2$ auf $20,0 \pm 6,3 \text{ J/cm}^2$. Besonders bei wiederholten UV-A-Bestrahlungen stieg nach Contralum-Ultra-Creme-Behandlung der Pigmentierungsgrad nur unwesentlich von anfänglich $1,0 \pm 0,6$ auf $1,3 \pm 0,8$ nach der vierten Bestrahlung (Steigerung von $1,8 \pm 0,75$ auf $2,5 \pm 0,6$ bei unbehandelter Haut). Hierbei konnte zwischen Contralum-Ultra-Creme (konservierte Form) und Contralum-Ultra-unkonserviert-Creme kein

Wirkungsunterschied beobachtet werden. Damit konnte eine UV-A-blockierende Wirkung des Konservierungsmittels Pyrithionzink ausgeschlossen werden.

Mit dem hier vorgestellten Modell läßt sich die MTD und damit der Grad der UV-A induzierten Melanogenese schnell und einfach bestimmen. Die Wirkung von Lichtschutzmitteln im langwelligen UV-Bereich kann man auf diese Weise vorwiegend qualitativ beurteilen, da eine quantitative Aussage wegen der auch von Kaidbey und Kligman (1978) beobachteten großen individuellen Dosisunterschiede durch eine große Fehlerbreite erschwert wird.

Das weiter vorgestellte Modell zur Lichtschutztestung im UV-A Bereich basiert auf einer phototoxischen 8-MOP-UV-A Reaktion. Ein standardisiertes Modell existierte hierfür noch nicht. Nach lokaler 8-MOP Behandlung wurden in Analogie zur herkömmlichen Lichtschutzfaktorbestimmung Erythemtreppen mit unterschiedlichen UV-A Dosen nebeneinander angelegt. Als Erythemschwellendosis wurde die MPD an unbehandelter Haut mit der MPD der durch ein Lichtschutzmittel geschützten Testfelder verglichen.

Dabei bewirkte eine Erhöhung der 8-MOP Konzentration bis zu handelsüblicher 0,15%igen 8-MOP-Lösung eine proportionale Abnahme der MPD und der für eine überschwellige Grad-2-Reaktion erforderlichen Dosis. Dies zeigt die Konzentrationsabhängigkeit der phototoxischen Reaktion. Bei lokaler Anwendung von 8-MOP im Rahmen der 8-MOP-Photochemotherapie wird von den meisten Autoren die 0,15%ige Lösung bevorzugt (Hofmann et al., 1976). Als Grundlage wird 70% Isopropylalkohol verwendet. Dieser bewirkte auch bei UV-A Dosen bis zu $1,5 \text{ J/cm}^2$ keine photo-toxische Reaktion.

Im direkten Vergleich zwischen unbehandelter und mit Piz-Buin-6-Creme-geschützter Haut bewirkte dieses Lichtschutzpräparat eine Erhöhung der MPD von $0,9 \pm 0,6$ auf $1,9 \pm 0,9 \text{ J/cm}^2$ (Gruppe III a) beziehungsweise von $0,7 \pm 0,4$ auf $2,6 \pm 2,2 \text{ J/cm}^2$ (III b). Die für eine Grad-2-Reaktion notwendige UV-A Dosis mußte dazu von $1,6 \pm 0,7$ auf $2,0 \pm 0,9 \text{ J/cm}^2$ (Gruppe III a) und von $2,0 \pm 0,5$ auf $5,6 \pm 2,0 \text{ J/cm}^2$ (Gruppe III b) erhöht werden. Hiermit konnte analog zur herkömmlichen Lichtschutzfaktorbestimmung der minimalen Erythemdosis im UV-B Bereich (MED-UV-B) (Schulze, 1956) der Lichtschutzfaktor im UV-A Bereich ($\lambda > 320 \text{ nm}$; Strahlungsmaximum bei 370 nm), die minimale Erythemdosis im UV-A Bereich (MED UV-A) bestimmt

werden. Wir bestimmten den UV-A Lichtschutzfaktor aus dem Quotient der MPD für geschützte und ungeschützte Haut. Mit den oben bestimmten Mittelwerten errechnete sich für Piz-Buin-6-Creme ein Lichtschutzfaktor für UV-A von $2,1 \pm 1,6$ (Testgruppe III a) bzw. $3,9 \pm 3,1$ (Testgruppe III b). Dabei wurden die mit Piz-Buin-6-Creme geschützten Testareale in Gruppe III a mit UV-A-Dosen bis maximal 2,0, in Gruppe III b dagegen mit UV-A-Dosen bis maximal 6,0 J/cm² bestrahlt. Ungeschützte Testfelder wurden in beiden Gruppen mit maximal 2,0 J/cm² UV-A bestrahlt. Bei allen Patienten konnte damit eine phototoxische Reaktion hervorgerufen werden. Zweimal lag die MPD der Piz-Buin-6-Creme-geschützten Testfelder über 2,0 J/cm² UV-A. Daraus erklärt sich der höhere Mittelwert von $2,6 \pm 2,2$ der MPD von Piz-Buin-6 geschützten Testfeldern in Gruppe III b gegenüber $1,9 \pm 0,9$ J/cm² in Gruppe III a.

Um die Wirkung eines Lichtschutzpräparates im UV-A-Bereich quantitativ bestimmen zu können, ist in einem ausreichend großen Probandenkollektiv eine entsprechend hohe UV-A Dosis zu prüfen. Dies gilt insbesondere für die Grad-2-Reaktion. Die UV-A-Faktorbestimmung auf Grund der Ergebnisse der Testgruppe III a wäre wegen der

zu geringen Maximaldosis von $2,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A nicht korrekt und würde zu niedrige Werte ergeben. Dagegen konnte auf allen mit Piz-Buin-6-Creme-geschützten Testfeldern der Gruppe III b mit einer Maximaldosis von $6,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A eine phototoxische Reaktion hervorgerufen werden. Dadurch ließ sich für den UV-A Lichtschutzfaktor des Präparates Piz-Buin-6-Creme ein Richtwert von $3,9 \pm 3,1$ errechnen.

Wegen der großen individuellen Schwankungsbreite der MPD ist für eine genaue Lichtschutzfaktorbestimmung ein größeres Probandenkollektiv erforderlich.

Die histologischen Untersuchungen verdeutlichen diesen Sachverhalt. Mit Piz-Buin-6-Creme geschützte Testareale von Patient 1 (Abb.3) und 2 (Abb.7) wurden mit $3,0$ bzw. $6,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlt (Präparat Nr.3). Patient 1 zeigte eine deutliche perivaskuläre Infiltration mit frischen Erythrozytenextravasaten, lichtgeschädigten Zellen und Spiegeleizellen (Abb.6). Dies entspricht einer akuten phototoxischen Reaktion. Patient 2 dagegen zeigte ein normal konfiguriertes Epithel ohne entzündliche Infiltrate und eine nur gering durch vereinzelte Spiegeleizellen angedeutete phototoxische Reaktion (Abb.9). Diese unterschiedlichen individuellen Reaktionen bei

gleichem Hauttyp III müssen bei der Lichtschuttfaktorbestimmung berücksichtigt werden. Die schon im ersten Modell erkennbare UV-A-absorbierende Wirkung von Contralum-Ultra-Creme wurde durch die Untersuchungen des zweiten Modells bestätigt. In allen Testgruppen erhöhte dieses Präparat die MPD gegenüber unbehandelter Haut auf mindestens das Zweifache. Erst durch Bestrahlungen mit maximal $10,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A in Testgruppe III b konnte auf den mit Contralum-Ultra-Creme geschützten Testfeldern eine phototoxische Reaktion hervorgerufen werden. Die MPD war $8,3 \pm 2,3$ gegenüber $0,7 \pm 0,4 \text{ J/cm}^2$ UV-A auf unbehandelter Haut. Damit errechnete sich ein UV-A Lichtschutzfaktor von $11,8 \pm 5,7$. Dieser Wert ist wegen der geringen Probandenzahl von sieben nur als Annäherung an den UV-A Lichtschutzfaktor zu verstehen. Ippen und Perschmann (1970) kamen in experimentellen Untersuchungen des Präparats Contralum-Ultra-Creme zu einem Lichtschutzfaktor von 7 im UV-A-Bereich.

Die histologischen Untersuchungen bestätigten die ausgeprägte UV-A Lichtschutzwirkung von Contralum-Ultra-Creme. Patient 1 und 2 wurden jeweils nach Anwendung von Contralum-Ultra-Creme mit maximal $10,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlt. Obwohl makroskopisch ein minimales Erythem zu erkennen war (Abb. 3 und 7),

konnten histologisch die Untersuchungen (jeweils Präparat 4) nicht von denen normaler, alters-
entsprechender Haut unterschieden werden. Es zeigte sich in beiden Präparaten eine normal erscheinende Epidermis ohne weitgestellte Gefäße, ohne peri-
vaskuläre Infiltrate, ohne Ödem und ohne auffällig lichtgeschädigte Zellen.

Eine UV-A-protective Wirkung wurde bei der Salbengrundlage von Contralum-Ultra-Creme, die als Trägersubstanz keine der bekannten UV-absorbierenden Wirkstoffe enthält, nicht beobachtet. In Testgruppe III b wurde Haut, die mit Contralum-Ultra-Salbengrundlage behandelt wurde, mit ungeschützter Haut verglichen. Es zeigte sich im Gegensatz zu Contralum-Ultra-Creme eine Reduzierung der MPD von $0,7 \pm 0,4$ auf $0,6 \pm 0,5 \text{ J/cm}^2$ UV-A durch die Salbengrundlage. Diese Verstärkung einer phototoxischen Reaktion durch die Anwendung von Creme oder Salbe, aber auch durch Feuchtigkeit (Wasserfilm, Wassertropfen) ist durch andere Untersuchungen schon belegt worden (Anderson und Parrish, 1981).

Die histologischen Untersuchungen bestätigten diese Verstärkung der phototoxischen 8-MOP-UV-A Reaktion durch die Salbengrundlage. So wurden bei Patient 1 Testfelder, die mit Contralum-Ultra-Salbengrundlage behandelt und anschließend mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlt

wurden, mit unbehandelten, ebenfalls mit $1,0 \text{ J/cm}^2$ UV-A bestrahlten Testfeldern verglichen (Abb.3). Anschließend wurde jeweils eine Probebiopsie entnommen. Die unbehandelte Haut (Präparat Nr.1, Abb.4) zeigte ein normales, altersentsprechendes Epithel ohne lichtgeschädigte Zellen. Mit Contralum-Ultra-Salbegrundlage behandelte Haut dagegen (Präparat Nr.2, Abb.5) wies basal und suprabasal lichtgeschädigte Zellen im Sinne einer phototoxischen Reaktion auf. Möglicherweise läßt sich diese Beobachtung dadurch erklären, daß die UV-A-Strahlen leichter in die durch die Salbegrundlage angefeuchtete Haut eindringen können. Sayre et al.(1978) wiesen darauf hin, daß der Feuchtigkeitsgrad des Stratum corneum bei Lichtschutzfaktorbestimmungen eine wichtige Rolle spielt und die protektive Wirkung vieler Präparate bei hoher Luftfeuchtigkeit oder starker Perspiration reduziert würde. Der Präparategrundlage kommt ein nicht unerheblicher Anteil der Wirksamkeit von Lichtschutzfiltern zu. Nach Charlet und Finkel (1977) werden mit wasserlöslichen Filtern in Form einer Öl/Wasseremulsion die höchsten Lichtschutzfaktoren erreicht. Nach unseren Untersuchungen im UV-A-Bereich wird durch die Grundlage von Contralum-Ultra-Creme auch das Eindringen der UV-A Strahlen in die Haut begünstigt.

AV-UV-205, eine nicht im Handel befindliche Substanz mit fraglicher UV-A- und UV-B-Wirksamkeit zeigte erst bei relativ hohen UV-A-Dosen eine geringe Lichtschutzwirkung. In Testgruppe IV war die MPD nach Behandlung mit 5,0% AV-UV-205-Creme $1,3 \pm 0,7$ gegenüber $1,2 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$ UV-A auf unbehandelter Haut. Signifikante Unterschiede waren auch bei hohen UV-A-Dosen nicht feststellbar.

Eine anschließende UV-B-Testung des Präparats mit Philips-UV-Lampen TL/12/20W in Testgruppe V ergab auch im UV-B-Bereich keine Hinweise auf eine protektive Wirkung. Die minimale Erythemdosis lag bei $0,05 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$ UV-B, was in etwa den Literaturangaben von $0,025 \text{ J/cm}^2$ bei der Wellenlänge 300 nm entsprach (Mutzhas et al., 1981). Dabei muß berücksichtigt werden, daß die von uns verwendeten Philips-UV-Lampen ein polychromatisches Spektrum zwischen 280 und 380 nm mit einem Hauptenergieanteil zwischen 290 und 340 nm besitzen und daher zum Erreichen der Erythemschwellendosis eine höhere Energie als mit dem sonst üblichen 300 nm Hochleistungsgittermonochromator (annähernd monochromatisches Spektrum) erforderlich ist.

Nach Behandlung mit 5,0% AV-UV-205-Creme lag die MED-

UV-B mit $0,06 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$ nur unwesentlich über der MED-UV-B unbehandelter Haut. Auch 0,1 und 1,0% Konzentrationen des Präparates konnten die Erythemschwellendosis nicht über $0,06 \pm 0,03 \text{ J/cm}^2$ UV-B anheben. Signifikante Unterschiede zu unbehandelter Haut waren damit auch im UV-B Bereich nicht festzustellen.

Nach Untersuchungen von Emmett(1978) können Sonnenschutzmittel wie Paraaminobenzoessäure und Benzophenone in Verbindung mit UV-A-Bestrahlung phototoxische und photoallergische Reaktionen hervorrufen. Auch Goldman und Epstein (1969) untersuchten mehrere gebräuchliche Sonnenschutzpräparate, die Paraaminobenzoessäure enthielten. Nach UV-A-Bestrahlung wurde bei einem Patienten eine photoallergische Kontaktdermatitis beobachtet, die sich auf das Lichtschutzpräparat zurückführen ließ. Hölzle und Plewig (1982) konnten ebenfalls eine photoallergische Kontaktdermatitis durch benzophenonhaltige Sonnenschutzpräparate nachweisen. Dadurch konnte gezeigt werden, daß neben Sulfonamiden, psoralenhaltigen Kosmetika oder Seifen, die halogenierte Salizylanilide enthalten, auch Sonnenschutzpräparate photoallergische Reaktionen auslösen können.

In unseren Untersuchungen der Testgruppe III a wurde gefunden, daß das Lichtschutzpräparat Piz-Buin-3-Creme

bei allen sieben Patienten die Erythemschwellendosis sowie die zu einer Grad-2-Reaktion führende UV-A-Dosis reduzierte. Die MPD unbehandelter Haut war $0,9 \pm 0,6$, nach Behandlung mit Piz-Buin-3-Creme $0,5 \pm 0,1 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Die für eine Grad-2-Reaktion erforderliche UV-A-Dosis war $1,6 \pm 0,7$, nach Behandlung mit Piz-Buin-3-Creme $1,1 \pm 0,7 \text{ J/cm}^2$. Diese Unterschiede könnten dadurch erklärt werden, daß das cremige, keine UV-A-protectiven Wirkstoffe enthaltende Präparat Piz-Buin-3-Creme eine bessere Transmission der UV-A Strahlen bewirkt, die zu einer stärkeren Erythemreaktion auf der Haut und damit zu einer niedrigeren Erythemschwelle führt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Piz-Buin-3-Creme zwar im UV-B-Bereich einen ausreichenden Lichtschutz gewährt, jedoch im UV-A-Bereich keinerlei protective Wirkung hat. Es besteht daher das überraschende Ergebnis, daß ein Sonnenschutzmittel nicht vor der globalen Sonnenbestrahlung schützt. Da phototoxische und photoallergische Hautreaktionen fast stets UV-A-vermittelt sind, ist diese unzulängliche Lichtschutzwirkung mancher Präparate zu bedenken. Ein gutes Lichtschutzpräparat soll im UV-B- und UV-A-Bereich wirksam sein.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Anhand von 2 Versuchsmodellen wurde die Reaktion menschlicher Haut auf UV-A Strahlung untersucht. Die für eine über 24 Stunden anhaltende UV-A Pigmentierung erforderliche Schwellendosis (MTD) wurde mit $13,3 \pm 5,2 \text{ J/cm}^2$ bestimmt. Die UV-A Pigmentierung trat sofort nach der Bestrahlung auf und blieb länger als 72 Stunden bestehen. Durch wiederholte Bestrahlungen mit 40 J/cm^2 konnte die bereits aufgrund anderer Untersuchungen bekannte Dosisabhängigkeit der UV-A Pigmentierung bestätigt werden. Die Wirksamkeit von Lichtschutzpräparaten im UV-A-Bereich konnte am Beispiel von Contralum-Ultra-Creme durch Erhöhung der MTD von $13,3 \pm 5,2$ auf $20,0 \pm 6,3 \text{ J/cm}^2$ UV-A nachgewiesen werden. Zwischen der konservierten und unkonservierten Form dieses Präparats wurde kein Wirkungsunterschied beobachtet.

Weiterhin wurde die phototoxische 8-MOP-UV-A-Reaktion untersucht. Durch Versuchsreihen mit verschiedenen Konzentrationen der 8-MOP-Lösung konnte

die Konzentrationsabhängigkeit dieser Reaktion nachgewiesen werden. Mit dem Trägermedium der 8-MOP-Lösung, 70% Isopropylalkohol, konnte keine phototoxische Reaktion ausgelöst werden.

Außerdem wurde der Einfluß von Lichtschutzpräparaten auf die phototoxische 8-MOP-UV-A-Reaktion untersucht. Dazu wurde die nach Behandlung mit dem jeweiligen Präparat sich ergebende MPD mit der MPD auf unbehandelter Haut verglichen.

Die Lichtschutzmittel Piz-Buin-6-Creme und Contralum-Ultra-Creme erhöhten die MPD signifikant von $0,7 \pm 0,4$ auf $2,6 \pm 2,2$ bzw. $8,3 \pm 2,3 \text{ J/cm}^2$ UV-A. Analog dem UV-B Lichtschutzfaktor errechnete sich aus dem Quotienten der MPD von behandelter und unbehandelter Haut der UV-A Lichtschutzfaktor von $3,9 \pm 3,1$ für Piz-Buin-6-Creme und $11,8 \pm 5,7$ für Contralum-Ultra-Creme.

Eine Verstärkung der phototoxischen Reaktion wurde durch die Salbengrundlage von Contralum-Ultra-Creme und das UV-B Lichtschutzpräparat Piz-Buin-3-Creme beobachtet. Die MPD wurde dabei von $0,7 \pm 0,4$ auf $0,6 \pm 0,5$ bzw. von $0,9 \pm 0,6$ auf $0,5 \pm 0,1 \text{ J/cm}^2$ UV-A reduziert.

Histologische Untersuchungen der bestrahlten Testfelder von zwei Personen bestätigten die Ergebnisse. Biopsien von ungeschützter, mit Contralum-Ultra-Salbengrundlage und mit Piz-Buin-6-Creme behandelter Haut zeigten dabei jeweils das Bild einer phototoxischen Reaktion mit Epithelnekrose, perivaskulären Infiltraten und lichtgeschädigten Keratinozyten.

Vor allem durch Untersuchungen mit dem Präparat Piz-Buin-6-Creme konnte eine individuelle Schwankungsbreite der MPD gezeigt werden. Es ist daher zur zuverlässigen UV-A Lichtschutzfaktorbestimmung ein größeres Probandenkollektiv als zur UV-B Lichtschutztestung erforderlich.

6. LITERATUR

1. Algra RJ, Knox JM (1978) Topical photoprotective agents. Int J Dermatol 17:628
2. Anderson RR, Parrish JA (1981) The optics of human skin. J Invest Dermatol 77:13-19
3. Braun-Falco O, Hofmann G, Plewig G (1978) Photochemotherapie; ein neues therapeutisches Prinzip zur Behandlung der Psoriasis und anderer Hauterkrankungen. Münch Med Wochenschr 120.12:401-402
4. Charlet E, Finkel P (1977) Die Beeinflussung des Lichtschutzfaktors aus der Sicht des Kosmetikchemikers. Ärztl Kosmetol 7:56-59
5. Challoner AVJ, Diffey BL (1977) Problems associated with ultraviolet dosimetry in the photochemotherapy of psoriasis. Br J Dermatol 97:643-648
6. El Mofty AM (1948) A preliminary clinical report on the treatment of leucoderma with Ammi majus Linn. J Roy Egypt MA 31:651-665

7. Emmet EA (1978) Drug photoallergy. *Int J Dermatol* 17:370
8. Everett MA, Yeagers E, Sayre RM (1966) Penetration of epidermis by UV rays. *Photochem Photobiol* 5:533
9. Fischer E, Solomon S (1959) Physiologic effects of ultraviolet radiation, therapeutic electricity and ultraviolet radiation. *Elisabeth Licht, New Haven* pp 273-274
10. Fitzpatrick TB, Szabó G, Seji M, Quevedo WC (1979) Biology of the melanin pigmentary system. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen FK (eds) *Dermatology in general medicine*. Second edition, Mc Graw Hill, New York, pp 131-163
11. Fitzpatrick TB, Breathnach AS (1963) Das epidermale Melanin-Einheit System. *Dermatol Wochenschr* 147:484
12. Forbes PD, Davies RE, Urbach F (1977) Experimental UV photocarcinogenesis; wavelength interaction with timedose relationship. National Cancer Institute, Washington, Monograph 50:31-38
13. Frain -Bell W, Hetherington A, Johnson BE (1979) Contact allergic sensitivity to chrysanthemum and the photosensitivity dermatitis and actinic reticuloid syndrome. *Brit J Dermatol* 101:491-501

14. Galosi A, Plewig G (1982) Photoallergisches Ekzem durch Ambrette Moschus. Hautarzt 33:589-594
15. Galosi A, Hölzle E, Plewig G, Braun-Falco O (1982) PUVA-Therapie bei persistierender Lichtreaktion. Hautarzt 33:657-661
16. Gilchrest BA, Soter NA, Hawk JLM, Barr RM, Black AK, Hensby CN, Mallet AI, Greaves MW, Parrish JA (1983) Histologic changes associated with UV-A-induced erythema in normal human skin. J Am Acad Dermatol 9:213-219
17. Goldman GC, Epstein E (1969) Contact photosensitivity from sun-protective agent. Arch Dermatol 100:447-449
18. Greaves MW, Sondergaard J (1970) Pharmacologic agents released in ultraviolet inflammation studied by continuous skin perfusion. J Invest Dermatol 54:365-369
19. Greaves MW, Vella Briffa D (1981) UV-A and the skin. Brit J Dermatol 105:477-482
20. Harber LC, Baer RL, Bickers DR (1972) Pathogenetic mechanisms of drug induced photosensitivity. J Invest Dermatol 58:327
21. Hölzle E, Plewig G (1982) Photoallergische Kontaktdermatitis durch benzophenonhaltige Sonnenschutzpräparate. Hautarzt 33:391-393

22. Hölzle E, Plewig G, Hofmann C, Roser-Maaß E (1982) Polymorphous light eruption. Experimental reproduction of skin lesions. J Am Acad Dermatol 7:111-125
23. Hofmann C, Plewig G, Braun-Falco O (1976) Technische Erfahrungen mit der 8-Methoxypsoralen-Photochemotherapie bei Psoriasis vulgaris. Hautarzt 27:277-285
24. Ippen H, Perschmann U (1970) Untersuchungen zur Lichtphysiologie der Haut. Arch Klin Exp Dermatol 236:207-216
25. Jimbow K, Kukita A (1971) Fine structure of pigment granules. In: Kawamura T, Fitzpatrick TB, Seiji M (eds) Biology of normal and abnormal melanocytes. University of Tokyo Press, Tokyo, pp 171-193
26. Jimbow K, Pathak MA, Fitzpatrick TB (1973) Effect of ultraviolet on the distribution pattern of microfilaments and microtubules and on the nucleus in human melanocytes. Yale J Biol Med 46:411
27. Johnson SC, Cripps DJ, Norback DH (1979) Actinic reticuloid. A clinical, pathologic and action spectrum study. Arch Dermatol 115:1078-1083
28. Jung EG (1980) Photoallergische Substanzen und ihre Epikutantestung. Ärztl Kosmetol 10:243-249

29. Jung EG (1978) Xeroderma pigmentosum-heterogeneous syndrome and model for UV-carcinogenesis. Bull Cancer 65:315
30. Kaidbey KH, Kligman AM (1978) The acute effects of long-wave ultraviolet radiation on human skin. J Invest Dermatol 72:253-256
31. Kaidbey KH, Kligman AM (1975) Further studies of photoaugmentation in humans : Phototoxic reactions. J Invest Dermatol 65:472-475
32. Kaidbey KH, Kligman AM (1978) Laboratory methods for appraising the efficacy of sunscreens. J Soc Cosmet Chem 29:525-536
33. Kaidbey KH, Grove GL, Kligman AM (1979) The influence of longwave ultraviolet radiation on sunburn cell production by UV-B. J Invest Dermatol 73:243-245
34. Karlson P (1977) Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 10.Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S 149-151
35. Keahey TM, Lavker RM, Kaidbey KH (1981) Solar urticaria: Induction of tolerance and demonstration of a photoreactive serum factor. J Invest Dermatol 76:322-323
36. Kligman LH (1982) Intensification of ultraviolet-induced dermal damage by infrared radiation. Arch Dermatol Res 272:229-238

37. Langner A, Kligman AM (1972) Tanning without sunburn with aminobenzoic acid-type sunscreen. Arch Dermatol 106:338-343
38. Layker RM, Kaidbey KH (1982) Redistribution of melanosomal complexes within keratinocytes following UV-A irradiation: A possible mechanism for cutaneous darkening in man. Arch Dermatol Res 272:215-228
39. Lischka G, Jung EG (1982) Lichtkrankheiten der Haut. 2. Auflage, Perimed Verlag Erlangen, S 26-41
40. Miescher G (1940) Strahlenphysiologie der Haut. Arch Dermatol Syph 180:238-251
41. Miescher G (1957) Histology of skin reactions to light. Dermatologica 115:42-47
42. Mutzhas M, Hölzle E, Hofmann C, Plewig G (1981) A new apparatus with high radiation energy between 320-460 nm: Physical description and dermatological applications. J Invest Dermatol 76:42-47
43. Parrish JA, Ying CY, Pathak MA, Fitzpatrick TB (1974) Erythemogenic properties of long-wave ultraviolet light. In: Pathak MA, Harber LC, Seiji M, Kukita A, Fitzpatrick TB (eds) Sunlight and man. Tokyo, University of Tokyo Press, pp 131-141

44. Parrish JA, White HAD, Pathak MA (1979) Photomedicine. Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen FK (eds) Dermatology in general medicine. Second edition, Mc Graw Hill, New York, pp 942-994
45. Parrish JA, Anderson RR, Urbach F, Pitts D (1978) UV-A: Biological effects of ultraviolet radiation. Plenum Press, New York, pp 186-193
46. Pathak MA (1982) Sunscreens: Topical and systemic approaches for protection of human skin against harmful effects of solar radiation. J Am Acad Dermatol 7:285-312
47. Pathak MA, Riley FC, Fitzpatrick TB (1962) Melanogenesis in human skin following exposure to longwave ultraviolet and visible light. J Invest Dermatol 39:435-443
48. Pitts DG, Cullen AP (1978) UV-A: Biological effects of ultraviolet radiation with emphasis on human responses to long wavelength ultraviolet. In: Parrish JA, Anderson RR, Urbach F, Pitts D (eds) UV-A: Biological effects of ultraviolet radiation. Plenum Press, New York, pp 195-202
49. Flewig G, Hofmann C, Hölzle E (1979) Polymorphe Lichtdermatose. In: Braun-Falco O, Wolff HH (Hrsg) Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie, Bd 9. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 117-127

50. Ryckmanns F, Schmoeckel C, Plewig G, Braun-Falco O (1983) UVA-pigmentation: ultrastructural and morphometric analysis. Abstract, Joint meeting, Society for cutaneous ultrastructure research & International society of dermatopathology, Berlin, June 15-18
51. Sayre RM, Desrochers DL, Marlowe E, Urbach F (1978) The correlation of indoor solar simulator and natural sunlight. Arch Dermatol 114: 1649-1651
52. Sayre RM, Olson RL, Everett MA (1966) Quantitative studies on erythema. J Invest Dermatol 46: 240-244
53. Schauder S, Ippen H (1982) Photodermatoses and light protection. Inter J Dermatol 21: 241-247
54. Schulze R (1956) Einige Versuche und Bemerkungen zum Problem der handelsüblichen Lichtschutzmittel. Parfüm und Kosmetik 6 B46:310- B51:315
55. Smith KC (1974) The cellular repair of radiation damage. In: Pathak MA, Harber LC, Seiji M, Kukita A, Fitzpatrick TB (eds) Sunlight and man. Tokyo, University of Tokyo Press, pp 67-77
56. Spiegel H, Plewig G, Hofmann C, Braun-Falco O (1978) Photoaugmentation; ein photobiologisches Phänomen. Arch Dermatol Res 261: 189-200

57. Tronnier H (1973) Lichtschutz in kosmetik und Therapie. Umweltmedizin 8: 194-200
58. Van der Leun JC, Stoop TH (1969) Photorecovery of ultraviolet erythema, the biological effects of ultraviolet radiation. Urbach F, Oxford, Pergamon pp 251-254
59. Van der Leun JC, Snuster J (1982) Correspondence. Mechanisms of ultraviolet erythema: what's new under the sun?-
Reply: what's new under der Leun?
Brit J Dermatol 107: 247-254
60. Walter JF (1973) Psoralen plus blacklight inhibits epidermal DNA synthesis. Arch Dermatol 107: 861-865
61. Willis I, Cylus L (1977) UVA erythema in skin: is it a sunburn? J Invest Dermatol 68: 128-129
62. Willis I, Kligman A, Epstein J (1973) Effects of long ultraviolet rays on human skin: Photoprotective or photoaugmentative? J Invest Dermatol 59: 416-420
63. Wolff K (1982) Skin, structure, natural and therapeutical targets of ultraviolet radiation. In: Helene C, Charlier M, Montenay-Gaertier, Laustriat G (eds) Trends in Photo-biology. Plenum Press New York, pp 253-266

64. Wucherpfennig V (1931) Biologie und praktische Verwendbarkeit der Erythemschwelle des UV. Strahlentherapie 40: 201-244
65. Ying CY, Parrish JA, Pathak MA (1974) Additive erythemogenic effects of middle (280-320 nm) and long (320-400 nm) wave ultraviolet light. J Invest Dermatol 63: 273-278

Ich möchte Herrn Prof. Dr. med. G. Plewig, früher München, jetzt Düsseldorf, für die Überlassung des Phemas und die stets freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit herzlich danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco, daß die Arbeit an seiner Klinik durchgeführt werden konnte.

Für die wertvolle Hilfe bei der Auswertung der Ergebnisse und Zusammenstellung der Arbeit danke ich Herrn Dr. med. A. Galosi in München und Herrn Privatdozent Dr. med. E. Hölzle in Düsseldorf.

Schließlich möchte ich den Mitarbeiterinnen der Lichtabteilung der Dermatologischen Klinik der Universität München, Frau E. Schiller und Frau M. Habig, die mir in allen technischen Belangen unterstützend zur Seite standen, herzlich danken.

Lebenslauf

Am 1. Juli 1953 wurde ich als Sohn des Professors Dipl.-Ing. Karl Rüger und seiner Frau Ruth, geb. Bezler in Augsburg geboren. Dort besuchte ich die Volksschule und das Holbein-Gymnasium. Nach dem Umzug meiner Familie nach München im Jahre 1965 besuchte ich das Erasmus-Grasser-Gymnasium und legte im Sommer 1973 das Abitur ab. Nach Studien der Physik, Forstwissenschaft und Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München studierte ich von 1977 bis 1983 an der Universität Regensburg und an der Technischen Universität München Humanmedizin. Im Mai 1983 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt. Seither arbeite ich als Assistenzarzt an einer chirurgischen Privatklinik.

